

Den kliniska betydelsen av antikroppar mot citrullinerade peptider vid reumatoid artrit

KATERINA CHATZIDIONYSIOU, LARS KLAESKOG OCH ANCA I CATRINA

Reumatoid artrit (RA) är en kronisk systemisk inflammatorisk sjukdom med autoimmun etiologi. Den drabbar cirka en procent av befolkningen, oftare kvinnor än män (1). Obehandlad leder sjukdomen till destruktion av brosk och ben och orsakar deformiteter, rörelseinskränkning och kronisk smärta. De strukturella förändringarna uppkommer tidigt under sjukdomsförloppet, största delen de två första åren, och progressionshastigheten är betydligt snabbare de första åren efter diagnos (2, 3). Ju tidigare behandlingen sätts in desto större är möjligheten att uppnå ett meningsfullt behandlingssvar (4). Med tanke på långtidsprognosen är det därför mycket viktigt att identifiera dels specifika markörer som gör att diagnosen kan ställas tidigt, dels faktorer som förutsäger aggressivare sjukdom och större risk för radiologisk progression. I denna översikt presenteras den kliniska signifikansen av en antikroppsklass vid RA, nämligen antikroppar mot citrullinerade peptider (ACPA) samt deras roll vid patogenesen av RA.

Antikroppar mot citrullinerade peptider (ACPA): vad? hur? när? varför?

Citrullinering är den posttranslationella modifieringen av citrullin till arginin katalyserad av enzymerna peptidylarginindeiminaser (PAD). Reaktionen beskrevs ursprungligen som en fysiologisk process som normalt förekommer vid den slutliga differentieringen av epidermis (5–9) och under hjärnans utveckling (10, 11), men senare beskrevs den också i samband med inflammation (12, 13). PAD:s aktivitet är in vitro beroende av höga kalciumkoncentrationer som är svåra att åstadkomma intracellulärt in vivo. Det har därför framförts att citrullineringen av intracellulära antigener eventuellt sker extracellulärt efter att antigenerna har frisatts under celledöden (14). Det har dock nyligen framförts att det kan finnas andra reglerande faktorer som tillåter aktivering av PAD-enzymerna också vid fysiologiska kalciumnivåer (15). Det finns fem isoformer hos däggdjur. Av dem uttrycks PAD-2 och PAD-4, men inte de tre andra isoformerna PAD-1, PAD-3 och PAD-6, i cellerna i inflammerat synovium, såsom lymfocyter, makrofager, neutrofiler och fibroblaster (16, 17).

Brytning av toleransen som leder till bildning av ACPA men inte till citrullinering är specifikt för RA. De mekanismer som leder

SKRIBENTERNA

Katerina Chatzidionysiou är biträdande professor i reumatologi vid Karolinska Institutet, Stockholm. Hennes huvudsakliga forskningsintresse är att förstå de antireumatiska läkemedlens verkningsmekanismer för att identifiera faktorer som förutsäger behandlingssvar vid RA.

Lars Klareskog är professor i reumatologi vid Karolinska Institutet, Stockholm. Hans forskning gäller i huvudsak etiologin och den molekylära patogenesen vid RA med användande av både genetisk epidemiologi och molekylär immunologi för att undersöka förhållandet mellan gener, miljö och immunitet vid sjukdomsutvecklingen.

Anca Catrina är biträdande professor i reumatologi vid Karolinska Institutet, Stockholm. Hennes forskningsfokus riktar sig på tidiga immunologiska händelser som leder till sjukdom hos individer med risk att utveckla RA, med speciellt intresse för sådana händelser i lungorna.

till toleransbrytningen är ännu inte helt klarlagda. Det är intressant att utveckling av ACPA verkar följa ett distinkt mönster hos olika individer. I de flesta fall identifieras först bara en citrullinerad epitop hos varje individ. Därefter utvidgas antikroppsreaktiviteten och flera citrullinerade epitoper på olika proteiner identifieras när sjukdomsutbrottet närmar sig (18). Denna iakttagelse tyder på att brytningen av toleransen mot en citrullinerad epitop predisponerar för toleransbrytning mot ytterligare citrullinerade epitoper, och antyder att detta första steg kan ha mer att göra med identifiering av citrullinerade antigener i allmänhet än med en specifik citrullinerad autoantigen. Bildandet av ACPA är beroende av miljöexposition, men vilka ACPA-positiva individer som till slut kommer att utveckla artrit beror relativt sett mera på genetiska faktorer (i synnerhet vissa HLA-antigener) (19). Flera studier har visat att vissa MHC klass II-gener, speciellt de DRB1-alleler som kodar för en bevarad aminosyragrupp kallad den delade epitopen (shared epitope, SE), är en stark riskfaktor för RA (20). HLA-DRB1-SE-allelerna är associerade med ACPA-positiv RA och påverkar också ACPA-svarets omfattning (21, 22).

ACPA känner igen flera citrullinerade antigener som har identifierats i inflammerat synovium hos RA-patienter, exempelvis vimentin, fibrinogen, alfa-enolas, kollagen typ II och fibronektin. De senaste åren har bestämningsmetoder som upptäcker antikroppar mot citrullinerade peptider (ACPA) blivit populära för att diagnostisera tidig reumatoid artrit. ACPA upptäcktes i början av 1960-talet, men invecklade bestämningsmetoder och osäkerhet om deras antigenmål in vivo fördröjde mer utbredd användning inom diagnostiken. I dag är anti-CCP2-testet (anti-cyclic citrullinated peptide) den vanligaste metoden för att påvisa ACPA. Testet baserar sig på att påvisa in vitro-genererade citrullinerade peptider som är skräddarsydda för vidsträckt identifiering av citrullinerade mål. Anti-CCP-testet kan således reagera med de flesta målproteiner som antas spela en roll vid patogenesen av RA, såsom vimentin, a-enolas, fibrinogen, kollagen och filaggrin (23). Mer förfinade metoder för att karaktärisera immuniteten mot citrullinerade mål håller för närvarande på att utvecklas, och de kommer förhoppningsvis i framtiden att tillåta bättre fenotypisk karaktärisering av olika undergrupper av sjukdomen (24, 25).

Betydelsen av ACPA för patogenesen av RA

Som tidigare nämndes är ett invecklat samspel mellan gener och miljö nödvändigt för att RA ska utvecklas. Detta gäller speciellt för ACPA-positiv RA, och hypotesen har sitt ursprung i stora epidemiologiska undersökningar (26–31) som gjorts efter att ACPA befanns vara en specifik biomarkör för RA.

Rökning är den bäst dokumenterade miljöriskfaktorn för RA (32, 33) och har satts i samband med ökad citrullinering i lungorna, eventuellt genom ökat uttryck av PAD2 (34, 35). En färsk studie har dessutom visat på ett samband mellan inflammation och ökad citrullinering i lungorna, som inte bara begränsas till rökningssinducerad inflammation (36, 37). Dessa fynd i kombination med observationen att ACPA kan upptäckas i blodet långt före ledinflammationen (38–44) har gett upphov till hypotesen att det specifika immunsvaret mot citrullinerade proteiner kan ha ett extraartikulärt ursprung, bland annat i lungorna. Hypotesen att ACPA först bildas i lungorna och sedan i ett andra steg angriper lederna stöds ytterligare av observationer av lokal anrikning av ACPA i den bronkoalveolära vätskan hos patienter med tidig obehandlad RA, och i inducerat sputum hos personer utan artrit som löper risk att utveckla RA (45) (i vissa fall också utan att samma antikroppar finns i blodet). Delade immunologiska mål som gör att dessa immunologiska händelser sekundärt lokaliseras till lederna har beskrivits i lungor och synovialvävnad hos patienter med RA (46). Flera andra fynd ger ytterligare stöd för denna hypotes, exempelvis inflammation och ektopiska lymfoida strukturer i bronkbiopsier från patienter med tidig ACPA-positiv RA (47) och i lungbiopsier från ACPA-positiva individer med kronisk lungsjukdom men utan tecken på artrit (48). Tecken på inflammation i lungorna har beskrivits vid högupplösande datortomografi både hos friska ACPA-positiva personer med hög risk att utveckla RA, också icke-rökare (49), och hos patienter med tidig obehandlad ACPA-positiv RA (50).

Förutom lungorna har tandköttet misstänkts vara ett ställe där den abnorma autoimmuna reaktionen vid RA kan ha sitt ursprung (51). Kronisk inflammation av gingivan (periodontit) förekommer i samband med rökning och produktion av

ACPA och ökar risken för att utveckla RA (52–54). Andra miljöfaktorer, som exponering för kiseloxid- (55) och textildamm (56) samt störningar i mikrobiomet (57), kan potentiellt spela samma roll som rökning i den invecklade händelsekedja som leder till extraartikulär immunologisk aktivering och senare till artrit.

Antikroppar som bildas extraartikulärt utsöndras i det perifera blodet och kan upptäckas flera år innan man ser kliniska tecken på ledinflammation. Dessa antikroppar ansamlas vid någon tidpunkt i lederna och orsakar synovit genom sin förmåga att aktivera komplementsystemet (58), stimulera aktivering av makrofager (59), inducera osteoklastogenes (60) och stimulera neutrofiler (61). Det är dock fortfarande oklart vilka händelser eller händelsekedjor som krävs för sekundär lokalisering till leden. Det finns flera möjliga förklaringar: (1) att det finns en tills vidare oidentifierad ”andra anfallare” (exempelvis smärre trauma) som ökar uttrycket av citrullinerade proteiner i friska leder som annars inte har stora mängder av dem (12), (2) att målet ursprungligen är en annan ledkomponent än synovialmembranet, såsom benvävnaden (61), och (3) att det sker fortlöpande spridning och mognad av ACPA som behövs för att de ska bli patogena (18). Framtida forskning inom området kommer att inrikta sig på dessa frågor.

Klinisk betydelse av ACPA

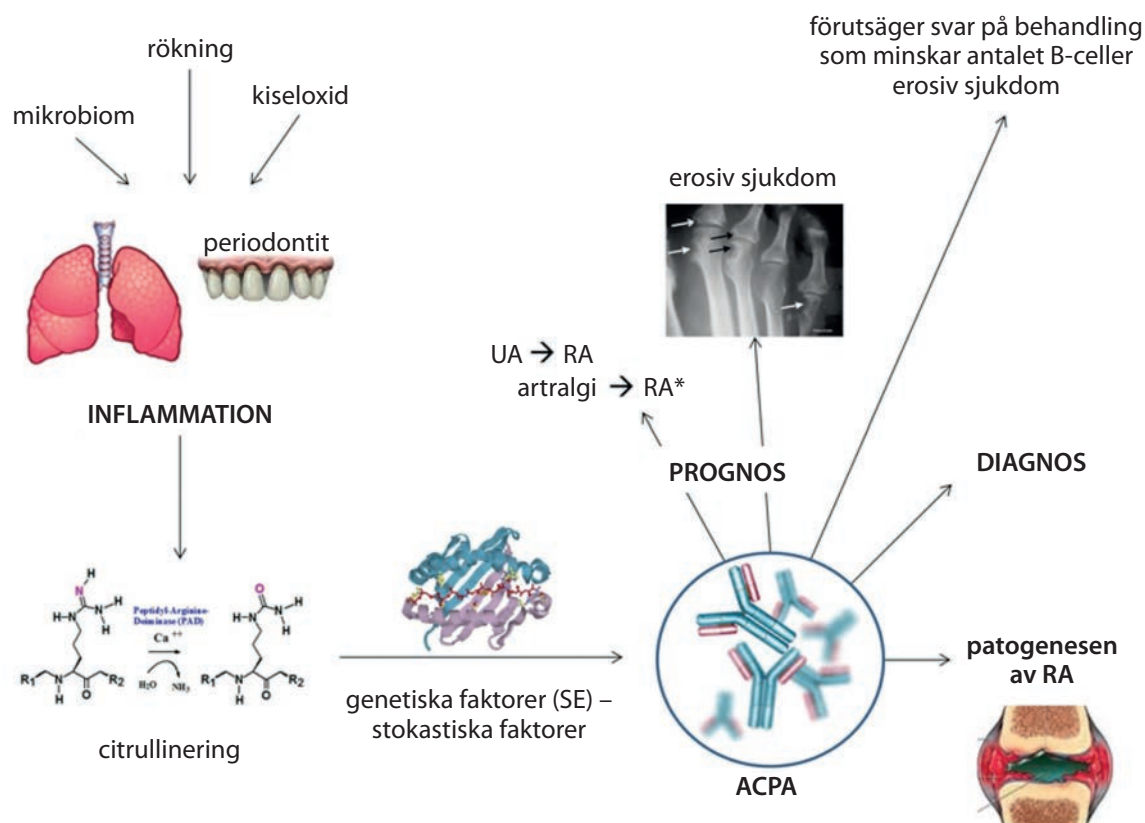
Vid sidan av rollen vid patogenesen av RA är ACPA utan tvivel kliniskt betydelsefulla på flera andra sätt. Detta beskrivs mer i detalj i det följande.

Först och främst gör den höga specificiteten ACPA till ett viktigt diagnostiskt verktyg. Hos ungefär 70 procent av RA-patienterna utgör ACPA en mycket specifik sjukdomsmarkör. Jämfört med den reumatoida faktorn (RF), som förekommer vid flera andra autoimmuna sjukdomar och infektioner och också hos äldre friska individer, har ACPA högre specificitet men liknande sensitivitet (62). En nyligen publicerad metaanalys visar att ACPA:s diagnostiska specificitet för RA är omkring 96 procent, medan sensitiviteten är mellan 67 och 78 procent hos patienter med manifest RA (sedan mer än två år) och omkring 57 procent vid tidig RA (63). ACPA spelar en viktig roll i de nya kriterierna för diagnos

och klassificering av RA, där förekomsten av ACPA och inte bara RF kraftigt bidrar till det poängtal som behövs för att klassificera en patient som RA (64). Reumatologer bör dock beakta att dessa kriterier (som liknar 1987 års kriterier) (65) har utvecklats för klassificering och för forskningsändamål för att säkerställa mer homogena patientgrupper i olika kliniska studier. I klinisk praxis bör de därför användas som ett hjälpmedel och inte som renodlade diagnostiska kriterier.

En annan viktig klinisk egenskap hos ACPA är deras prediktiva värde. ACPA är ett tidigt fenomen som kommer mer än tio år före de kliniska symtomen (40, 41). Förekomst av ACPA är överrepresenterad hos släktingar i första ledet till RA-patienter (66). I en annan studie med individer med hög risk (två familjemedlemmar med RA) var det positiva prediktiva värdet (PPV) för att utveckla RA inom fem år 69,4 procent om ACPA-antikroppar upptäcktes, och 100 procent om det också förekom IgM-RF-antikroppar (41). I en annan patientkohort förutsåg ACPA-positivitet på ett signifikant sätt progression av odifferentierad artrit till RA (67). En holländsk studie har visat att ACPA kan förutsäga RA i en patientkohort med artralgi men utan tecken på artrit. Av 147 patienter som följdes upp prospektivt utvecklade 29 (20 procent) artrit inom en mediantid på 11 månader. Av dem som utvecklade artrit var 90 procent ACPA-positiva, vilket ger den relativa risken 6,0 (konfidensintervall 1,8–19,8) för ACPA-positivitet. Frekvensen av delad epitop verkade vara högre hos dem som utvecklade artrit än hos dem som inte gjorde det, men detta nådde inte statistisk signifikans. IgM-RF hade samband med sjukdomsprogression bara vid förekomst av ACPA (68). ACPA har inte bara samband med utvecklande av sjukdom utan också med sämre prognos och mer erosiv sjukdom (69–73). En möjlig förklaring till detta är den nyligen gjorda observationen att ACPA direkt angriper benvävnaden (74).

Sist men inte minst kan ACPA användas för att förutse effekten av vissa behandlingar vid RA. Kliniska prövningar och stora kohortstudier baserade på patientpopulationer i klinisk praxis har visat att seropositiva patienter, och framför allt de som är ACPA-positiva, har en signifikant större chans att svara på behandling som minskar B-cells mängden, såsom rituximab (75–79). Det finns också allt mer evidens för att be-



Figur 1. Flera yttre och inre utlösande faktorer kan leda till citrullinering, som i sin tur kan utlösa produktionen av antikroppar mot citrullinerade peptider hos genetiskt predisponerade individer. Delad epitop (shared epitope, SE) är den viktigaste genetiska riskfaktorn för RA. ACPA är av betydelse vid patogenesen av RA men också för att ställa diagnos och för att bedöma risken att utveckla RA hos patienter med odifferentierad artrit eller personer med artralgi, samt risken för aggressivare sjukdom (med större risk för skador på skelettet). ACPA kan också förutsäga ett gott terapivärde för agenser som minskar mängden B-celler (rituximab).

handlingssvaret på abatacept, en selektiv kostimulationsmodulator som inhiberar T-cellsaktivering, är associerad med ACPA-seropositivitet (80). Att kunna förutsäga behandlingsvaret är ytterst viktigt med beaktande av de nuvarande höga kostnaderna för behandling av RA (gäller speciellt biologiska läkemedel som rituximab, abatacept och andra), eventuella biverkningar och det faktum att tidig behandling kan förbättra prognosen väsentligt.

Sammanfattning

Identifiering av antikroppar mot citrullinerade peptider har utan tvekan ökat vår kunskap om och förståelse av patogenesen av reumatoid artrit. Bortsett från det har dessa antikroppar blivit ett viktigt diagnostiskt verktyg, en markör för dålig prognos

och erosiv sjukdom och ett sätt att förutsäga svaret på behandling som minskar antalet B-celler vid RA (Figur 1). Antalet potentiella autoantigener vid RA blir allt större och framtida forskning behövs för att närmare utreda den roll som ACPA och ACPA med olika specificitet spelar vid patogenesen och vid olika fenotyper av RA.

Katerina Chatzidionysiou
aikaterini.chatzidionysiou@karolinska.se

Lars Klareskog
lars.klareskog@ki.se

Anca I Catrina
anca.catrina@si.se

Inga bindningar

Referenser

1. Kvien TK. Epidemiology and burden of illness of rheumatoid arthritis. *Pharmacoeconomics* 2004;22:1–12.
2. McQueen FM, Stewart N, Crabbe J, et al. Magnetic resonance imaging of the wrist in early rheumatoid arthritis reveals a high prevalence of erosions at four months after symptom onset. *Annals of the rheumatic diseases* 1998;57:350–356.
3. Fuchs HA, Kaye JJ, Callahan LF, et al. Evidence of significant radiographic damage in rheumatoid arthritis within the first 2 years of disease. *The Journal of rheumatology* 1989;16:585–591.
4. Anderson JJ, Wells G, Verhoeven AC, et al. Factors predicting response to treatment in rheumatoid arthritis: the importance of disease duration. *Arthritis and rheumatism* 2000;43:22–29 doi: 10.1002/1529-0131(200001)43:1<22::AID-ANR4>3.0.CO;2-9(published Online First: Epub Date)].
5. Senshu T, Kan S, Ogawa H, et al. Preferential deimination of keratin K1 and filaggrin during the terminal differentiation of human epidermis. *Biochemical and biophysical research communications* 1996;225:712–719 doi: 10.1006/bbrc.1996.1240(published Online First: Epub Date)].
6. Senshu T, Akiyama K, Nomura K. Identification of citrulline residues in the V subdomains of keratin K1 derived from the cornified layer of newborn mouse epidermis. *Experimental dermatology* 1999;8:392–401.
7. Harding CR, Scott IR. Histidine-rich proteins (filaggrins): structural and functional heterogeneity during epidermal differentiation. *J Mol Biol* 1983;170:651–673.
8. Pearton DJ, Dale BA, Presland RB. Functional analysis of the profilaggrin N-terminal peptide: identification of domains that regulate nuclear and cytoplasmic distribution. *The Journal of investigative dermatology* 2002;119:661–669 doi: 10.1046/j.1523-1747.2002.01851.x(published Online First: Epub Date)].
9. Scott IR, Harding CR, Barrett JG. Histidine-rich protein of the keratohyalin granules. Source of the free amino acids, urocanic acid and pyrrolidone carboxylic acid in the stratum corneum. *Biochim Biophys Acta* 1982;719:110–117.
10. Moscarello MA, Wood DD, Ackerley C, et al. Myelin in multiple sclerosis is developmentally immature. *The Journal of clinical investigation* 1994;94:146–154 doi: 10.1172/JCI117300(published Online First: Epub Date)].
11. Beniac DR, Wood DD, Palaniyar N, et al. Cryoelectron microscopy of protein-lipid complexes of human myelin basic protein charge isomers differing in degree of citrullination. *Journal of structural biology* 2000;129:80–95 doi: 10.1006/jsbi.1999.4200(published Online First: Epub Date)].
12. Makrygiannakis D, af Klint E, Lundberg IE, et al. Citrullination is an inflammation-dependent process. *Ann Rheum Dis* 2006;65:1219–22 doi: 10.1136/ard.2005.049403(published Online First: Epub Date)].
13. Vossenaar ER, Smeets TJM, Kraan MC, et al. The presence of citrullinated proteins is not specific for rheumatoid synovial tissue. *Arthritis Rheum* 2004;50:3485–94 doi: 10.1002/Art.20584(published Online First: Epub Date)].
14. Schwab BL, Guerini D, Didszun C, et al. Cleavage of plasma membrane calcium pumps by caspases: a link between apoptosis and necrosis. *Cell death and differentiation* 2002;9:818–831 doi: 10.1038/sj.cdd.4401042(published Online First: Epub Date)].
15. Romero V, Fert-Bober J, Nigrovic PA, et al. Immune-mediated pore-forming pathways induce cellular hypercitrullination and generate citrullinated autoantigens in rheumatoid arthritis. *Sci Transl Med* 2013;5:209ra150 doi: 10.1126/scitranslmed.3006869(published Online First: Epub Date)].
16. Foulquier C, Sebbag M, Clavel C, et al. Peptidyl arginine deiminase type 2 (PAD-2) and PAD-4 but not PAD-1, PAD-3, and PAD-6 are expressed in rheumatoid arthritis synovium in close association with tissue inflammation. *Arthritis and rheumatism* 2007;56:3541–53 doi: 10.1002/art.22983(published Online First: Epub Date)].
17. Makrygiannakis D, Revu S, Engstrom M, et al. Local administration of glucocorticoids decreases synovial citrullination in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2012;14:R20 doi: 10.1186/ar3702(published Online First: Epub Date)].
18. Brink M, Hansson M, Mathsson L, et al. Multiplex analyses of antibodies against citrullinated peptides in individuals prior to development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2013 doi: 10.1002/art.37835(published Online First: Epub Date)].
19. Hensvold AH, Magnusson PK, Joshua V, et al. Environmental and genetic factors in the development of anticitrullinated protein antibodies (ACPAs) and ACPA-positive rheumatoid arthritis: an epidemiological investigation in twins. *Ann Rheum Dis* 2015;74:375–380 doi: 10.1136/annrheumdis-2013-203947(published Online First: Epub Date)].
20. Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1987;30:1205–13.
21. van de Stadt LA, de Koning MH, van de Stadt RJ, et al. Development of the anti-citrullinated protein antibody repertoire prior to the onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism* 2011;63:3226–33 doi: 10.1002/art.30537(published Online First: Epub Date)].
22. van der Helm-van Mil AH, Verpoort KN, Breedveld FC, et al. The HLA-DRB1 shared epitope alleles are primarily a risk factor for anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and are not an independent risk factor for development of rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism* 2006;54:1117–21 doi: 10.1002/art.21739(published Online First: Epub Date)].
23. Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000;43:155–163 doi: 10.1002/1529-0131(200001)43:1<155::aid-anr20>3.0.co;2-3(published Online First: Epub Date)].
24. Hansson M, Mathsson L, Schleder T, et al. Validation of a multiplex chip-based assay for the detection of autoantibodies against citrullinated peptides. *Arthritis Res Ther* 2012;14:R201 doi: 10.1186/ar4039(published Online First: Epub Date)].
25. Chandra PE, Sokolove J, Hipp BG, et al. Novel multiplex technology for diagnostic characterization of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2011;13:R102 doi: 10.1186/ar3383(published Online First: Epub Date)].
26. Huizinga TW, Amos CI, van der Helm-van Mil AH, et al. Refining the complex rheumatoid arthritis phenotype based on specificity of the HLA-DRB1 shared epitope for antibodies to citrullinated proteins. *Arthritis Rheum* 2005;52:3433–8 doi: 10.1002/art.21385(published Online First: Epub Date)].
27. Pedersen M, Jacobsen S, Klarlund M, et al. Environmental risk factors differ between rheumatoid arthritis with and without auto-antibodies against cyclic citrullinated peptides. *Arthritis Res Ther* 2006;8:R133 doi: 10.1186/ar2022(published Online First: Epub Date)].
28. Karlson EW, Chang SC, Cui J, et al. Gene-environment interaction between HLA-DRB1 shared epitope and heavy cigarette smoking in predicting incident rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2010;69:54–60 doi: 10.1136/ard.2008.102962(published Online First: Epub Date)].
29. Too CL, Yahya A, Murad S, et al. Smoking interacts with HLA-DRB1 shared epitope in the development of anticitrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis: results from the Malaysian Epidemiological Investigation of Rheumatoid Arthritis (MyEIRA). *Arthritis Res Ther* 2012;14:R89 doi: 10.1186/ar3813(published Online First: Epub Date)].
30. Padyukov L, Silva C, Stolt P, et al. A gene-environment interaction between smoking and shared epitope genes in HLA-DR provides a high risk of seropositive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004;50:3085–92 doi: 10.1002/art.20553(published Online First: Epub Date)].
31. Klareskog L, Padyukov L, Ronnelid J, et al. Genes, environment and immunity in the development of rheumatoid arthritis. *Curr Opin Immunol* 2006;18:650–655 doi: 10.1016/j.coi.2006.06.004 (published Online First: Epub Date)].
32. Hutchinson D, Shepstone L, Moots R, et al. Heavy cigarette smoking is strongly associated with rheumatoid arthritis (RA), particularly in patients without a family history of RA. *Annals of the rheumatic diseases* 2001;60:223–227.
33. Kallberg H, Ding B, Padyukov L, et al. Smoking is a major preventable risk factor for rheumatoid arthritis: estimations of risks after various exposures to cigarette smoke. *Annals of the rheumatic diseases* 2011;70:508–511 doi: 10.1136/ard.2009.120899 (published Online First: Epub Date)].

34. Makrygiannakis D, Hermansson M, Ulfgren AK, et al. Smoking increases peptidylarginine deiminase 2 enzyme expression in human lungs and increases citrullination in BAL cells. *Ann Rheum Dis* 2008;67:1488–92 doi: 10.1136/ard.2007.075192(published Online First: Epub Date)].
35. Reynisdottir G, Karimi R, Joshua V, et al. Structural changes and antibody enrichment in the lungs are early features of anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol* 2014;66:31–39 doi: 10.1002/art.38201(published Online First: Epub Date)].
36. Lugli EB, Correia RE, Fischer R, et al. Expression of citrulline and homocitrulline residues in the lungs of non-smokers and smokers: implications for autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Arthritis research & therapy* 2015;17:9 doi: 10.1186/s13075-015-0520-x(published Online First: Epub Date)].
37. Klareskog L, Catrina AI. Autoimmunity: Lungs and citrullination. *Nat Rev Rheumatol* 2015;11:261–262 doi: 10.1038/nrrheum.2015.38(published Online First: Epub Date)].
38. Aho K, Heliovaara M, Maatela J, et al. Rheumatoid factors antedating clinical rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1991;18:1282–4.
39. Kurki P, Aho K, Palosuo T, et al. Immunopathology of rheumatoid arthritis. Antikeratin antibodies precede the clinical disease. *Arthritis Rheum* 1992;35:914–917 .
40. Rantapaa-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism* 2003;48:2741–9 doi: 10.1002/art.11223(published Online First: Epub Date)].
41. Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis and rheumatism* 2004;50:380–386 doi: 10.1002/art.20018(published Online First: Epub Date)].
42. Chibnik LB, Mandl LA, Costenbader KH, et al. Comparison of threshold cutpoints and continuous measures of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in predicting future rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2009;36:706–711 doi: 10.3899/jrheum.080895(published Online First: Epub Date)].
43. Majka DS, Deane KD, Parrish LA, et al. Duration of pre-clinical rheumatoid arthritis-related autoantibody positivity increases in subjects with older age at time of disease diagnosis. *Ann Rheum Dis* 2008;67:801–807 doi: 10.1136/ard.2007.076679(published Online First: Epub Date)].
44. Shi J, van de Stadt LA, Levarht EW, et al. Anti-carbamylated protein (anti-CarP) antibodies precede the onset of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2014;73:780–703 doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204154(published Online First: Epub Date)].
45. Willis VC, Demoruelle MK, Derber LA, et al. Sputum autoantibodies in patients with established rheumatoid arthritis and subjects at risk of future clinically apparent disease. *Arthritis Rheum* 2013;65:2545–54 doi: 10.1002/art.38066(published Online First: Epub Date)].
46. Ytterberg AJ, Joshua V, Reynisdottir G, et al. Shared immunological targets in the lungs and joints of patients with rheumatoid arthritis: identification and validation. *Ann Rheum Dis* 2014 doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204912(published Online First: Epub Date)].
47. Joshua V, Reynisdottir G, Ytterberg J, et al. Characterization of lung inflammation and identification of shared citrullinated targets in the lungs and joints of early RA. *Arthritis Rheum* 2013;65:S392–S92.
48. Fischer A, Solomon JJ, du Bois RM, et al. Lung disease with anti-CCP antibodies but not rheumatoid arthritis or connective tissue disease. *Respir Med* 2012;106:1040–7 doi: 10.1016/j.rmed.2012.03.006(published Online First: Epub Date)].
49. Demoruelle MK, Weisman MH, Simonian PL, et al. Brief report: airways abnormalities and rheumatoid arthritis-related autoantibodies in subjects without arthritis: early injury or initiating site of autoimmunity? *Arthritis Rheum* 2012;64:1756–61 doi: 10.1002/art.34344(published Online First: Epub Date)].
50. Reynisdottir G, Karimi R, Joshua V, et al. Structural changes and antibody enrichment in the lungs are early features of anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis. *Arthritis & rheumatology* 2014;66:31–39 doi: 10.1002/art.38201(published Online First: Epub Date)].
51. de Pablo P, Chapple IL, Buckley CD, et al. Periodontitis in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol* 2009;5:218–224 doi: 10.1038/nrrheum.2009.28(published Online First: Epub Date)].
52. Mikuls TR, Thiele GM, Deane KD, et al. Porphyromonas gingivalis and disease-related autoantibodies in individuals at increased risk of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2012;64:3522–30 doi: 10.1002/art.34595(published Online First: Epub Date)].
53. Lappin DF, Apatzidou D, Quirke AM, et al. Influence of periodontal disease, Porphyromonas gingivalis and cigarette smoking on systemic anti-citrullinated peptide antibody titres. *Journal of clinical periodontology* 2013;40:907–915 doi: 10.1111/jcpe.12138(published Online First: Epub Date)].
54. Maresz KJ, Hellvard A, Sroka A, et al. Porphyromonas gingivalis facilitates the development and progression of destructive arthritis through its unique bacterial peptidylarginine deiminase (PAD). *PLoS pathogens* 2013;9:e1003627 doi: 10.1371/journal.ppat.1003627(published Online First: Epub Date)].
55. Stolt P, Kallberg H, Lundberg I, et al. Silica exposure is associated with increased risk of developing rheumatoid arthritis: results from the Swedish EIRA study. *Ann Rheum Dis* 2005;64:582–586 doi: 10.1136/ard.2004.022053(published Online First: Epub Date)].
56. Too CL, Muhamad NA, Padyukov L, et al. Gene-Environment Interaction Between HLA-DRB1 Shared Epitope and Occupational Textile Dust Exposure In The Risk Of ACPA-Positive Rheumatoid Arthritis In Female Patients: Evidence From The Malaysian Epidemiological Investigation Of Rheumatoid Arthritis Case-Control Study. *Arthritis Rheum* 2013;65:S457–S58.
57. Scher JU, Abramson SB. The microbiome and rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2011;7:569–578 doi: 10.1038/nrrheum.2011.121(published Online First: Epub Date)].
58. Trouw LA, Haisma EM, Levarht EW, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies from rheumatoid arthritis patients activate complement via both the classical and alternative pathways. *Arthritis Rheum* 2009;60:1923–31 doi: 10.1002/art.24622(published Online First: Epub Date)].
59. Sokolove J, Zhao X, Chandra PE, et al. Immune complexes containing citrullinated fibrinogen costimulate macrophages via Toll-like receptor 4 and Fcγ receptor. *Arthritis Rheum* 2011;63:53–62 doi: 10.1002/art.30081(published Online First: Epub Date)].
60. Harre U, Georgess D, Bang H, et al. Induction of osteoclastogenesis and bone loss by human autoantibodies against citrullinated vimentin. *J Clin Invest* 2012;122:1791–802 doi: 10.1172/JCI60975(published Online First: Epub Date)].
61. Kleyer A, Finzel S, Rech J, et al. Bone loss before the clinical onset of rheumatoid arthritis in subjects with anticitrullinated protein antibodies. *Ann Rheum Dis* 2013 doi: 10.1136/annrheumdis-2012-202958(published Online First: Epub Date)].
62. Levesque MC, Zhou Z, Moreland LW. Anti-cyclic citrullinated peptide testing for the diagnosis of rheumatoid arthritis and the quest for improved sensitivity and predictive value. *Arthritis and rheumatism* 2009;60:2211–5 doi: 10.1002/art.24720(published Online First: Epub Date)].
63. Whiting PF, Smidt N, Sterne JA, et al. Systematic review: accuracy of anti-citrullinated Peptide antibodies for diagnosing rheumatoid arthritis. *Annals of internal medicine* 2010;152:456–464; W155-66 doi: 10.7326/0003-4819-152-7-201004060-00010(published Online First: Epub Date)].
64. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis and rheumatism* 2010;62:2569–81 doi: 10.1002/art.27584(published Online First: Epub Date)].
65. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31(3):315-24
66. Barra L, Scinocca M, Saunders S, et al. Anti-citrullinated protein antibodies in unaffected first-degree relatives of rheumatoid arthritis patients. *Arthritis and rheumatism* 2013;65:1439–47 doi: 10.1002/art.37911(published Online First: Epub Date)].

67. Nicaise-Roland P, Nogueira L, Demattei C, et al. Autoantibodies to citrullinated fibrinogen compared with anti-MCV and anti-CCP2 antibodies in diagnosing rheumatoid arthritis at an early stage: data from the French ESPOIR cohort. *Annals of the rheumatic diseases* 2013;72:357–362 doi: 10.1136/annrheumdis-2011-201056(published Online First: Epub Date)].
68. Bos WH, Wolbink GJ, Boers M, et al. Arthritis development in patients with arthralgia is strongly associated with anti-citrullinated protein antibody status: a prospective cohort study. *Ann Rheum Dis* 2010;69:490–494 doi: 10.1136/ard.2008.105759(published Online First: Epub Date)].
69. Berglin E, Johansson T, Sundin U, et al. Radiological outcome in rheumatoid arthritis is predicted by presence of antibodies against cyclic citrullinated peptide before and at disease onset, and by IgA-RF at disease onset. *Annals of the rheumatic diseases* 2006;65:453–458 doi: 10.1136/ard.2005.041376(published Online First: Epub Date)].
70. Innala L, Kokkonen H, Eriksson C, et al. Antibodies against mutated citrullinated vimentin are a better predictor of disease activity at 24 months in early rheumatoid arthritis than antibodies against cyclic citrullinated peptides. *The Journal of rheumatology* 2008;35:1002–8.
71. Mustila A, Korpela M, Haapala AM, et al. Anti-citrullinated peptide antibodies and the progression of radiographic joint erosions in patients with early rheumatoid arthritis treated with FIN-RACo combination and single disease-modifying antirheumatic drug strategies. *Clinical and experimental rheumatology* 2011;29:500–505.
72. Syversen SW, Goll GL, van der Heijde D, et al. Prediction of radiographic progression in rheumatoid arthritis and the role of antibodies against mutated citrullinated vimentin: results from a 10-year prospective study. *Ann Rheum Dis* 2010;69:345–351 doi: 10.1136/ard.2009.113092(published Online First: Epub Date)].
73. van Steenberg HW, Ajeganova S, Forslind K, et al. The effects of rheumatoid factor and anticitrullinated peptide antibodies on bone erosions in rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases* 2014 doi: 10.1136/annrheumdis-2014-206623(published Online First: Epub Date)].
74. Harre U, Georgess D, Bang H, et al. Induction of osteoclastogenesis and bone loss by human autoantibodies against citrullinated vimentin. *J Clin Invest* 2012;122:1791–802 doi: 10.1172/JCI60975(published Online First: Epub Date)].
75. Chatzidionysiou K, Lie E, Nasonov E, et al. Highest clinical effectiveness of rituximab in autoantibody-positive patients with rheumatoid arthritis and in those for whom no more than one previous TNF antagonist has failed: pooled data from 10 European registries. *Annals of the rheumatic diseases* 2011;70:1575–80 doi: 10.1136/ard.2010.148759(published Online First: Epub Date)].
76. Narvaez J, Diaz-Torne C, Ruiz JM, et al. Predictors of response to rituximab in patients with active rheumatoid arthritis and inadequate response to anti-TNF agents or traditional DMARDs. *Clin Exp Rheumatol* 2011;29:991–977.
77. Cohen SB, Emery P, Greenwald MW, et al. Rituximab for rheumatoid arthritis refractory to anti-tumor necrosis factor therapy: Results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III trial evaluating primary efficacy and safety at twenty-four weeks. *Arthritis and rheumatism* 2006;54:2793–806 doi: 10.1002/art.22025(published Online First: Epub Date)].
78. Sellam J, Hendel-Chavez H, Rouanet S, et al. B cell activation biomarkers as predictive factors for the response to rituximab in rheumatoid arthritis: a six-month, national, multicenter, open-label study. *Arthritis Rheum* 2011;63:933–938 doi: 10.1002/art.30233(published Online First: Epub Date)].
79. Couderc M, Mathieu S, Pereira B, et al. Predictive factors of rituximab response in rheumatoid arthritis: results from a French university hospital. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2013;65:648–652 doi: 10.1002/acr.21865(published Online First: Epub Date)].
80. Gottenberg JE, Ravaud P, Cantagrel A, et al. Positivity for anti-cyclic citrullinated peptide is associated with a better response to abatacept: data from the 'Orencia and Rheumatoid Arthritis' registry. *Ann Rheum Dis* 2012;71:1815–9 doi: 10.1136/annrheumdis-2011-201109(published Online First: Epub Date)].

Summary

The clinical significance of anti-citrullinated peptide antibodies in rheumatoid arthritis

Interaction between genes and the environment is essential for development of seropositive RA. Recent insights into the longitudinal development of RA-associated antibodies suggest that, at very early stages of disease development, immune events occurring at extra-articular sites (such as the lungs) are essential. RA-associated antibodies, and in particular anti-citrullinated protein antibodies, have direct pathogenic effects that may explain how these immune events are secondary in localizing to the joints. Beside their important role in disease pathogenesis, ACPAs play a role as predictors of disease onset and disease outcome.